Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Selter.

Über die Serologie der Tuberkulose mit einem Versuch, die störenden Faktoren der Tuberkulose-Diagnostik durch eine Bestätigungsreaktion auszuschalten.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität
zu Bonn.

Vorgelegt am 25. Oktober 1939
von
Helmut Scheil
Arzt
aus Dillingen/Saar

BONN 1939
Anton Brand, Bonn

Gedruckt
mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. H. Selter.

Korreferent: Prof. Dr. Tiemann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Für den Nachweis einer entstandenen Tuberkulose-Infektion ist das Tuberkulin das beste Mittel, das bereits wenige Wochen nach dem Eindringen der Tuberkelbazillen in den Körper eine positive Reaktion herbeiführt. Leider ist die Tuberkulinreaktion nicht geeignet, um über den weiteren Verlauf der Infektion Aufschluß zu geben und vor allem erkennen zu lassen, wenn die oft monate- oder jahrelang aktiv bleibende Infektion in ein etwas fortgeschritteneres Stadium übergeht. Es war deshalb schon lange das Bestreben, hierfür serodiagnostische Methoden durch Nachweis komplementbindender Antikörper im Blut heranzuziehen, um den Beginn der Aktivierung schon zu erkennen, wenn die klinischen Befunde unsicher oder überhaupt noch nicht nachzuweisen sind. Von einer brauchbaren Serodiagnostik der Tuberkulose muß selbstverständlich weitgehende Spezifität verlangt werden.

Unter Serodiagnose im engeren Sinne versteht man Reaktionen, die zum Nachweis spezifischer Antikörper im Serum angestellt werden. Weit zurück bis zum Ende des vergangenen Jahrhunderts gehen die Bestrebungen auch für die Tuberkulose des Menschen, solche Methoden zu verwenden. Durch Anwendung der Agglutination, weiter der Präzipitation und endlich der Komplementbildung versuchte man das Ziel zu erreichen.

Beim Nachweis der Agglutininen mußte schon Robert Koch feststellen, daß dieses Verfahren zu unspezifisch war, um daraus exakte diagnostische Schlüsse folgern zu können. Hindernd war zunächst die schwere Verreibbarkeit der Tuberkelbazillen. Verbessert wurde die Methode, als es 1898 dem Franzosen Arloing gelang, eine geeignete Aufschwemmung von Tuberkelbazillen herzustellen. Mit Courmont zusammen arbeitete er dann eine Agglutinationsmethode aus, bei der 2 ccm einer Glycerinbouillonkultur mit fallenden Men-

gen des Krankenserums zusammengebracht und in den Brutschrank gestellt wurden, um das Resultat nach 2 und 4 Stunden abzulesen. Die Reaktion galt als positiv, wenn bei einer Serumverdünnung von 1:5 eine deutlich sichtbare Agglutination eintrat.

Die Ergebnisse dieser Reaktion veröffentlichte Courmont im Jahre 1908 auf dem Pariser Tuberkulose-Kongreß. Hiernach waren positiv 90% bei einwandfrei Tuberkulösen, 40% bei tuberkulös Verdächtigen und 30% bei Gesunden. Die Reaktion nach Arloing-Courmont sagte nichts über den Grad der Infektion aus, und war schon aus dem Grunde nicht brauchbar, weil sie öfter unspezifische Resultate ergab. Neuere Agglutinationsreaktionen wie die von Revelli, Fornet, Spronk und Hamburger haben sich ebenso wenig durchsetzen können. Die beiden letztgenannten Autoren benutzten für die Agglutination eine Aufschwemmung ihres „Bacillus tuberculosis transmutatus" (BTTx) in physiologischer Na-Cl-Lösung mit 0,3% Formol. Es handelte sich um lipoidarme, nicht säurefeste Bakterien. Im Menschenserum sollten Agglutinine gegen BTTx vorhanden sein, und zwar bei Tuberkulösen erheblich mehr als bei Gesunden und anderen Kranken.

Allard und Wotzka benutzten für ihre Untersuchungen das Transmutan-Diagnostikum von Spronk und Hamburger und erhielten in 75% positive Resultate bei offener Tuberkulose. Diese Untersuchungen bewiesen allerdings nur das Vorhandensein eines tuberkulösen Prozesses, sagten aber nichts aus über die Aktivität und Inaktivität des Herdes.

Die Präzipitationsmethode bei der Tuberkulose hat schon etwas bessere Ergebnisse gebracht. Als erster hat Marzagalli mit der Präcipitation Versuche angestellt. Aber bald gab er seine Versuche wieder auf, weil die Resultate zu unspezifisch und inkonstant waren. A. Bonome gelang es, Präcipitate zu erzielen, indem er als präcipitable Substanz Aufschwemmungen tuberkulöser Tierorgane verwandte, die er mit Quarzsand fein verrieb, in 5% Glycerinwasser emulgierte, zentrifugierte und dann filtrierte. In gleicher Weise stellte er bakterienfreie Filtrate aus Tuberkelbazillenkulturen her. Auf diese Weise gelang ihm zunächst der Nachweis, daß das Serum tuber-

kulöser Menschen und Rinder auf Eiweißkörper aus frischem Tuberkulosegewebe und auch auf Tuberkulose-Extrakte eine spezifische präzipitierende Wirkung hatte; weiter konnte er so eine wirkliche Differenzierung zwischen dem Typus humanus und bovinus erzielen. Auf Grund von Untersuchungen an einem großen Material kam Zwick jedoch zu dem Ergebnis, daß das Bonomesche Verfahren sich für die Trennung der Tuberkulose nicht eigne.

Im Jahre 1926 haben Lehmann-Facius und Loeschke eine neue Präzipitationsreaktion zum Nachweis aktiver Tuberkulose herausgebracht. Als Antigen wurden spezifische Organextrakte benutzt, wobei es sich um Stoffe handelte, die unter dem Einfluß tuberkulöser Gewebsveränderungen aus dem körpereigenen Gewebsverfall frei wurden, und die autogene Natur besitzen sollten. Ganz kurz sei die Reaktion in ihren wesentlichen Zügen erwähnt. Man mischt das Serum mit dem Extrakt und beobachtet, ob nach Aufenthalt des Gemisches im Brutschrank eine Ausfällung auftritt. Nach den Feststellungen von Blumenthal soll diese Reaktion einen großen Nachteil haben. Der Patient muß nämlich 1 Stunde vor der Blutentnahme eine Fettmahlzeit zu sich genommen haben, um dem Serum den nötigen Lipoidgehalt zu verleihen, der für das Zustandekommen der Reaktion nötig ist. Dadurch, glaubt Blumenthal, ist der Reaktion keine feste Basis gegeben. Andere Autoren wie Horster und Hämel, Steinert und andere, dagegen erzielten mit der Reaktion gute Erfolge.

Die Untersuchungen, die von Lehmann-Facius und Loeschke gemacht wurden, ergaben bei 230 Seren von nicht tuberkulösen Erkrankungen auch keine positiven Ausfälle. Die Ergebnisse von insgesamt 200 Fällen der verschiedensten Formen der Lungentuberkulose waren folgende:

Formen der Tuberkulose:	Positive Reaktionen:
rein produktiv	83,5%
zirrhotisch-kavernös	66,6%
nodös-zirrhotisch	63,6%
nodös-kavernös	45,4%
zirrhotisch	14,2%
nodös-exsudativ, exsudativ-kavernös	0

Weitere Präzipitationsreaktionen sind die von Schloßberger, Doan und von Calmette und Massol. Calmette und Massol fanden, daß Sera von Rindern, die durch intravenöse Injektionen von auf Gallennährböden gezüchteten Tuberkelbazillen immunisiert waren, mit verschiedenen Tuberkulinen Präzipitationserscheinungen hervorriefen. Jedoch kommen sie auf Grund ausgedehnter Versuche mit dem Präzipitationsverfahren, bei welchen sie auch Extrakte aus säurefesten Saprophyten und selbst Rotzbazillen durch die Sera gegen Tuberkulose immunisierten Tiere als präzipitabel erwiesen, zu dem Schluß, daß den Versuchen mit dem Präzipitationsverfahren bei Verwendung von Tuberkuloseseren und Tuberkulin wohl ein biologisches Interesse zukommt, der Ausfall der Reaktion jedoch keine diagnostische Schlüsse bei der Tuberkulose zuließe.

Während das Agglutinations- und Präzipitationsverfahren heutzutage nur noch ganz vereinzelt Anwendung findet, konnte die Komplementbindungsmethode zu einem brauchbaren Verfahren für die Diagnostik der Tuberkulose ausgearbeitet werden. Nachdem es J. Bordet und O. Gengou im Jahre 1901 gelungen war, spezifisch komplementbindende Antikörper für Hühner-Tuberkulose in einer Reihe Sera von kranken Tieren nachzuweisen, wurde von ihnen das Komplementbindungsverfahren auch bei der menschlichen Tuberkulose versucht.

Aber erst durch Wassermann wurde die Komplementbindung zu einer brauchbaren klinischen Methode ausgearbeitet und der Praxis zugängig gemacht. Er ging von folgenden Überlegungen aus. Nicht das Vorhandensein von Tuberkelbazillen im Organismus macht diesen krank. Sehr viele Menschen zeigen bei der Prüfung mit Tuberkulin eine positive Hautreaktion und sind deshalb durchaus nicht tuberkulös krank. Das sind sie erst dann, wenn tuberkulöses Gewebe bei ihnen vorhanden ist, und dieses tuberkulöse Gewebe in Tätigkeit gerät.

Wassermann wollte also durch die Serodiagnostik der Tuberkulose hauptsächlich die Aktivität des Prozesses erfassen, und nicht nur die Gegenwart von Tuberkelbazillen nachweisen. Er mußte zu diesem Zwecke also ein geeignetes Antigen verwenden und fand

dann, daß die Tuberkulose in serodiagnostischer Beziehung vielfach Berührungspunkte mit der Syphilis habe. Zunächst stellte er fest, daß auch in dem Serum der Tuberkulösen eine lipophyle Komponente vorhanden sein muß, also auch hier Lipoide im Antigen eine große Rolle spielen. Außerdem muß ein Tuberkuloseantigen neben rein spezifischen Leibesbestandteilen des Tuberkelbazillus eine gewisse Menge Phosphatide enthalten, um mit dem Serum tuberkulös erkrankter Individuen im Komplementversuch reaktionsfähig zu sein. Das Antigen Wassermanns bestand aus durch Tetralin soweit aufgelösten Tuberbelbazillen, daß bei Ziehl-Färbung jede Spur von Rotfärbung verschwunden ist.

Man verreibt das Pulver zu einer 1% feinen Suspension und gibt zu 9 Teilen 1 Teil 2% Lezithinlösung und schüttelt tüchtig durch. Dann wird zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgeschüttet und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Hier sei auch eine von Wassermann selbst durchgeführte Prüfung seines neuen Antigens angeführt. „Es handelt sich um Ergebnisse der Serumuntersuchung einer Anzahl Kranker, die als sicher tuberkulös bezeichnet wurden. Aus allen Stadien der Lungentuberkulose sowie von chirurgisch tuberkulös Kranken, ferner als Kontrolle je 2 Sera von Wa.-R. stark positiven Syphilitikern, von Graviden und Ca-Leidenden. Alle Seren von nicht tuberkulös Kranken reagieren negativ, positive Reaktionen finden wir nur bei Tuberkulose, aber nicht immer. Fall 231, 275, 277 und 279 reagierten trotz sicherer Tuberkulose negativ. Im Fall 231 soll es sich um ganz beginnendes Stadium 1 mit negativem Bazillenbefund handeln. Es ist also möglich, daß hier überhaupt keine Tuberkulose vorliegt. Im Gegensatz hierzu sind die Fälle 275 Lungentuberkulose im vorgeschrittenen 3. Stadium, bei 277 mit tuberkulöser Kniegelenkkomplikation. Im Falle 279 soll es sich um chirurgische Tuberkulose handeln, über die uns nähere Angaben fehlen."

Tabelle nach Wassermann.

Prüfung von Tb.-Seren mit ½ Stunde bei 56° inaktivierten Tb.-Präparat, Tb.-Präparat + Lecithin u. Lecithinkontrolle als Antigene.

Serum-Verdünnung 1:5
Komplement 1:20
} Volumen 0,25 ccm

	Tetralin-Tb.-Präparat	Tetralin-Tb.-Präp.+Lecithin	Lecithin-Kontrolle	Serum-kontrolle
Tb.-Serum 229	—	++	—	—
„ „ 230	—	+	—	—
„ „ 231	—	—	—	—
„ „ 232	—	++++	—	—
„ „ 233	—	±	—	—
„ „ 234	—	++	—	—
„ „ 235	—	±	—	—
„ „ 274	—	++	—	—
„ „ 275	—	—	—	—
„ „ 276	—	+++	—	—
„ „ 277	—	—	—	—
„ „ 278	—	+++	—	—
„ „ 279	—	—	—	—
„ „ 280	—	++	—	—
„ „ 311	+	++++	—	—
„ „ 312	—	±	—	—
„ „ 313	—	++++	—	—
„ „ 314	—	++++	—	—
„ „ 317	—	+++	—	—
„ „ 318	+	++++	—	—
	nach ½ St. negativ		Kontrollsera	
Syph.-Ser. 293	—	—	—	—
Syph.-Ser. 400	—	—	—	—
Normal-Ser. 394	—	—	—	—
Normal-Ser. 395	—	—	—	—
Gravid.-Ser. 511	—	—	—	—
Gravid.-Ser. 512	—	—	—	—
Ca-Ser. 3	—	—	—	—
Extrakt-Kontrolle	—	—	—	—

Mit dem Wassermannschen Tuberkulose-Antigen werden von einer Reihe von Nachuntersuchern folgende Ergebnisse ermittelt:

Pinner (646 Patienten): 71% positiv bei aktiver Tuberkulose. Auch inaktive Fälle reagieren gelegentlich positiv. 136 klinisch nicht Tuberkulöse 27 mal positiv.

Silberstein: 70% der aktiven Tuberkulose werden angezeigt, ⅓ der Syphilis-Fälle reagierten positiv.

Klemperer und Salomon: 233 Fälle. 56 Fälle sicher aktiv tuberkulös 73% positiv, 27% negativ. 87 Fälle tuberkuloseverdächtig, 57% positiv, 43% negativ. 90 nichttuberkulöse, 27% positiv, 73% negativ.

Backmann behauptete, daß die Wassermannsche Reaktion nur einen Teil der Fälle erkennen läßt. Sie soll aber kein Indikator für die Aktivität des Prozesses sein.

Schloßberger, Hartoch, Lusena, Prigge lassen die Angabe, daß das Wassermannsche Antigen die sichere Unterscheidung von aktiver und inaktiver Tuberkulose gestatte, nur bedingt gelten. Der Lecithinzusatz erhöht die Empfindlichkeit auf Kosten der Spezifität.

Im weiteren Verlauf der Forschung werden eine Reihe von spezifischen Tuberkulose-Antigenen ausgearbeitet, von denen hier nur die gebräuchlichsten angeführt seien. So bereitet Besredka sein Antigen aus Tuberkelbazillen, welche in einem besonderen Nährboden, dem Eigelb zugesetzt wurde, gewachsen sind.

Nègre und Bouquet extahieren die Tuberkelbazillen zuerst mit Aceton, dann mit Methylalkohol.

Neuberg und Klopstock schlossen Tuberkelbazillen mit benzoesaurem und salizylsaurem Natrium auf.

Alle diese angeführten Antigene, die alkoholische Tb.-Extrakte darstellen, sind nicht unbedingt spezifisch, sodaß sich die tuberkulösen Serumveränderungen nicht sicher von der bei Lues auftretenden abgrenzen lassen. Aus dieser Erkenntnis heraus führten Witebsky-Klingenstein und Kuhn in die Serodiagnose ein Antigen ein, das alkohol-pyridin- und acetonunlösliche, dagegen benzollösliche Tb.-Stoffe mit Zusatz von Lecithin enthält. Durch dieses neue Antigen wurden die für die Wa-R. verantwortlichen Lipoide des Tuberkel-

bazillus weitgehend ausgeschaltet und ein Übergreifen syphilitischer Blutsera eingeschränkt. Als Untersuchungstechnik benutzten die Forscher ihre bekannte Untersuchungstechnik, auf deren Einzelheiten ich an dieser Stelle nicht einzugehen brauche. Witebsky und Klingenstein geben allerdings selbst zu, daß bei ihrer Serodiagnostik der Tuberkulose gelegentlich Patientenseren auftreten können, die zu unspezifischen Ergebnissen führen.

Stahn berichtet, daß die Witebsky-Klingenstein-Kuhn-Reaktion im Durchschnitt bei aktiver Tuberkulose 85% der Fälle positiv und bei 11% der Fälle negativ ausgefallen sind.

Höring kann nur von einem positiven Erfolg von 70—80% berichten. Nach seiner Ansicht ist die W.-K.-K.-Reaktion sehr brauchbar, wenn auch die Hauptforderung, Einfachheit, hohe Spezifität und große Reichweite noch nicht restlos erfüllt sind.

Ernst stellte an dem Material von 758 Fällen mit aktiver Lungentuberkuose 62,9% positive Reaktionen fest. Er glaubt, daß sich die Häufigkeit des positiven Ausfalles der Reaktion mit der Ausdehnung und auch mit der Dauer steigern.

Wenn wir uns nun zusammenfassend die Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion vor Augen führen, so muß festgestellt werden, daß diese Methode doch noch in einem relativ hohen Prozentsatz versagt und daß sie vorläufig als differentialdiagnostisches Mittel bei beginnender Tuberkulose nicht ganz unsere Erwartungen erfüllt.

Ein weiterer Beitrag in der Serodiagnostik der Tuberkulose sind die Flockungsreaktionen, zu denen Meinicke den Grundstock gelegt hat. Im Jahre 1917 hat Meinicke die sogenannte Kochsalzmethode (MR) zu einer Immunitätsreaktion ausgestaltet und den Namen Lipoidreaktion gegeben. 1931 baute Meinike seine Klärungsreaktion als Immunitätsreaktion bei Rinderabortus, Gonorrhoe und Pferderotz aus und bediente sich dabei der von Schlesmann angegebenen Zentrifugiertechnik. Auf dieser Meinickeschen Immunitätsreaktion fußend versuchte dann Nagell mit Hilfe des von Witebsky-Kuhn-Klingenstein angegebenen Antigens, eine serologische Tb.-Reaktion auszubauen, was ihm auch gelungen ist. Seine Ergebnisse waren fol-

gende: Gesamtzahl der untersuchten Sera Lungentuberkulöser 101. Davon offene Tb. 64, geschlossene Tb. 29, Hilustuberkulose 8.

Unter den offenen Tb. reagierten 41 positiv, 19 negativ und 4 zweifelhaft.

Von den geschlossenen Tuberkulosen waren 13 Sera positiv, 14 Sera negativ und 2 Sera fraglich.

Bei den Hilusaffektionen fielen 3 positiv und 5 negativ aus.

Unabhängig von Nagell haben Haag und Dane das Zentrifugierverfahren von Meinicke ausgebaut und gute Ergebnisse erzielt. Sie untersuchten 235 Sera:

Tabelle nach Haag und Dane.

Meinicke Reaktion mit Witebsky Antigen	Lungentuberkul.		Knochen-tb.	Tuberkulose ausgeheilt	Sera von nicht tuberkulösen Kranken
	schwer	gutartig			
stark positiv	63%	23%	19%	0%	1%
positiv	37%	54%	54%	0%	2%
verdächtig	0%	23%	12%	46%	11%
negativ	0%	0%	15%	54%	86%
Zahl der untersuchten Fälle	46	13	81	13	82

Einen großen Nachteil der Reaktion sehen die Autoren aber darin, daß Luesfälle im allgemeinen positiv ansprechen.

1934 wurde als Verbesserung der Meinickeschen Immunitätsreaktion von Haag und Niggemeyer die Ballungsreaktion eingeführt, weil sie damit leichter ablesbare Reaktionen erzielten. Die Meinickesche Immunitätsreaktion wurde sinngemäß von ihnen derart abgeändert, daß als Tb.-Antigen das Präparat von Witebsky, Kuhn, Klingenstein als Verstärker das Müllersche Ballungsreagens und als Verfahren das Ballungsverfahren angewandt wurde. Die genaue Technik soll hier nicht näher besprochen werden. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Tabelle nach Haag und Niggemeyer.

Tuberkulose-Ballungs-reaktion	Zahl der untersuchten Fälle					
	Lungentuberkulose			Knochen-tuberkulose meist in Ausheilung	Klinisch Verdacht auf Tbk.	Klinisch kein Verdacht auf Tb.
	aktiv fort-schreitd.	aus-heilend	inak-tiv			
Stark positiv	73	3	0	3	3	0
positiv	16	1	1	2	1	0
Verdächtg	1	6	6	2	2	1
Negativ	4	1	2	1	3	31
Zusammen	94	11	9	8	9	32

Wenn man zurückblickend die Entwicklung der Serodiagnostik der Tuberkulose übersieht, so muß doch festgestellt werden, daß unzweifelhaft große Fortschritte gemacht wurden. Und trotzdem ist es bis heute noch nicht gelungen, die Reaktionen so auszubauen, daß man jedes untersuchte Serum mit positivem Ausschlag mit absoluter Sicherheit als tuberkulös ansprechen kann. Man wird wohl nicht zu hoch greifen, wenn man bei den neuesten und bewährtesten Tuberkulosereaktionen ein Versagen von mindestens 10% ansetzt.

Welches sind nun die Fehlerquellen, denen alle sero-diagnostischen Tuberkulose-Methoden unterworfen sind? An 1. Stelle seien die positiven Reaktionen von Syphilitiker-Seren mit den Tuberkulosen-Antigenen erwähnt. Bekanntlich neigen die verschiedensten Tuberkulosebazillenpräparate, besonders in Form vom alkoholischen Extrakten, dazu, mit Wassermann positiven Blutseren eine Komplementbindung zu geben. In den Tuberkelbazillen sind nämlich die ubiquitär verbreiteten Lipoide, wie sie in den alkoholischen Organextrakten zur Serodiagnostik der Syphilis eine wichtige Rolle spielen, in besonders günstiger Form vorhanden.

Eine weitere Fehlerquelle ist die serologische Verwandschaft einzelner Mikroorganismen wie der Diphterie- und Leprabazillus zum Tuberkelbazillen. So können z. B. Seren von Diphtheriekranken positive Tuberkulosereaktionen ergeben.

Es ist auch bekannt, daß gewisse Seren unter normalen und pathologischen Bedingungen (Gravidität, Lebercirrhose, Diabetes usw.), wobei durch Änderung des Albumin-Globulin-Quotienten

eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit und leichtere Fällbarkeit bei Einwirkung der verschiedensten Substanzen entsteht, in vielen Fällen eine positive Tb.-Reaktion ergeben, wenn sie mit den üblichen serologischen Methoden untersucht werden. Diese positive Reaktion ist nicht der Ausdruck eines wahren Reagierens zwischen Antigen und Antikörper, sonder nur die Folge des veränderten physiko-chemischen Zustandes des Serums. Auch stellen bei den Seroreaktionen die Antigene oft einen labilisierenden Faktor dar, der imstande ist, in unspezifischer Weise auf die physiko-chemischen Eigenschaften des Serums einzuwirken.

Um alle Störungen und Labilitätsfaktoren auszuschalten, habe ich durch eine Bestätigungsreaktion mittels eines Absorptionsverfahrens versucht, spezifischere und sicherere Ergebnisse in der serologischen Tb.-Diagnostik zu erzielen. Theoretisch beruht eine Bestätigungsreaktion auf der Tatsache, daß der Antikörper aus der Bindung mit dem Antigen gelöst werden muß. Ähnlich wie man auch bei den Fermenten durch Adsorption und Elution eine weitgehende Reinigung der aktiven Substanzen erreicht, so muß es doch auch möglich sein, Antikörper nach der Absprengung aus ihrer Bindung mit den Antigenen im Reinzustand zu gewinnen. Damit wäre also ein großer Teil der Serumeiweiße, durch welche die Labilität verursacht wird, beseitigt. Der so aller störenden Begleitfaktoren entkleidete Antikörper kann dann mit den bekannten Methoden als reagierend nachgewiesen werden.

Witebsky hat als erster ein Verfahren zur Adsorption von Antikörpern aus Seren Syphilitischer ausgearbeitet. Alessandro u. Sofia versuchten dieses Verfahren auch auf die Tuberkulose anzuwenden. In Anlehnung an diese Autoren habe ich unter Verwendung des Antigens von Witebsky, Kuhn und Klingenstein versucht, Antikörper an Kaolin zu adsorbieren. Ich habe Kaolin als Adsorbens benutzt, weil L. Olitzki in einer Arbeit den Nachweis führen konnte, daß gewisse Antikörper durch Adsorption an Kaolin adsorbiert werden können. Ausgehend von der Tatsache, daß die Antikörper aus der Bindung mit dem Antigen mittels solcher physiko-chemischer Maßnahmen wieder gelöst werden kann, die denjenigen entgegengesetzt

sind, die eine Vereinigung der beiden begünstigen, möchte ich nun auf die angewandte Technik eingehen :

I. Teil. Adsorption des Antigens an Kaolin.

Auf folgendem Wege wird dies erreicht: 0,5 ccm des Antigens nach Witebsky-Kuhn-Klingenstein für die Serodiagnostik der Tuberkulose werden in einer Porzellanschale eingedampft, der Rückstand davon wird mit 2 ccm 0,9% Kochsalzlösung unter kräftigem Rühren mit einem dicken Glasstab aufgeschwemmt. Zu der so erhaltenen Suspension des Antigens gibt man 0,1 g Kaolin hinzu, schüttelt kräftig um und hält die Mischung 10 Minuten bei Zimmertemperatur, wobei man gelegentlich umschüttelt. Darauf zentrifugiert man und gießt die überstehende Flüssigkeit ab. Durch eine möglichst hohe Umdrehungszahl (3000) werden die in der Suspension enthaltenen Antigene an das Kaolin adsorbiert.

II. Teil. Adsorption und Erntfernung der Antikörper aus dem Serum.

Zu dem Sediment aus Kaolin und Antigen gibt man 1 ccm Serum, das vorher 30 Minuten lang auf 56° erwärmt worden ist, schüttelt kräftig um, um das Kaolin gleichmäßig zu verteilen und hält den Ansatz unter gelegentlichem Schütteln zunächst 1 Stunde bei Zimmertemperatur, dann 8 Stunden im Eisschrank. Nach Ablauf dieser Zeit zentrifugiert man 20 Minuten bei 3000 Umdrehungen. Das überstehende Serum wird abgegeossen: absorbiertes Serum, das weder Antigen noch Antikörper enthält.

III. Teil. Versuch der Elution der Antikörper.

Zu diesem Zwecke habe ich das Sediment, bestehend aus dem Komplex Kaolin + Antigen + Antikörper, 2mal mit 3 ccm 0,9% Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann unter gelegentlichem Schütteln 30 Minuten im Wasserbad von 59—60° gehalten. Dann versuchte ich die Antikörper aus dem Kaolin-Antigen-Komplex durch Zentrifugieren in der Wärme zu entfernen. 2 Faktoren halte ich für die Eluierung der Antikörper für besonders wichtig. 1. Eine Temperaturkonstanz bei 60 Grad. 2. Eine genügend hohe Umdrehungszahl der Zentrifuge bis zu 3000 Touren. Auch Meyer und Pic messen

der Temperaturkonstanz die ausschlaggebende Bedeutung bei, weil sie annehmen, daß ein Teil der eluierten Antikörper bei Abkühlung wieder an das Kaolin-Antigen-Adsorbat gebunden wird. Um eine genügende Temperaturkonstanz zu erhalten, habe ich die Dewar-Zentrifugengefäße benutzt, die mir von einer Bonner Firma zu der Zentrifuge passend hergestellt wurden. Diese Dewar-Gefäße sind nach dem Thermosflaschen-Prinzip gebaut und eignen sich vorzüglich zu diesem Zweck. Außer den Maßnahmen gegen Wärmeverlust muß beim Zentrifugieren für eine hohe Umdrehungszahl und genügend lange Dauer gesorgt werden. Denn Spuren von Kaolin können den Ablauf der Reaktion durch Erhöhung der Eigenhemmung des Antigens stören. Um eine Temperaturkonstanz bei 60° zu gewährleisten, habe ich die Dewar-Gefäße vorher mit 60° warmer physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, die im geeigneten Augenblick ausgegossen wird, worauf man sofort den Inhalt der im Wasserbad auf 60° erwärmten Reagensröhrchen (Kaolin und Antigen und Antikörper) in sie einfüllt. Nach 20 Minuten Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen wird die vollkommen klare überstehende Flüssigkeit abgegeossen und stellt das Eluat dar.

Die Ergebnisse der Untersuchung waren folgende: Ich habe insgesamt 69 Seren von Kranken untersucht, die als sicher tuberkulös bezeichnet wurden, und zwar Seren aus allen Stadien der Lungentuberkulose. Zunächst untersuchte ich alle Seren nach der Methode von Witebsky-Kuhn-Klingenstein, und erhielt in 62 Fällen positive Ergebnisse. Bei diesen serodiagnostisch positiven Fällen wandte ich dann die Bestätigungsreaktion zum Nachweis der Antikörper an. Die Adsorption der Antikörper an das Kaolin ist mir in allen Fällen restlos gelungen. Das adsorbierte Serum ergab nach der W.-K.-K.-Reaktion, wie erwartet, keine positiven Ausfälle mehr. Somit konnten keine Antikörper mehr in dem Serum vorhanden sein. Dagegen hat das Eluat, in dem ich die von allen störenden Faktoren befreiten Antikörper vermutete, trotz peinlichst genauer Durchführung der Technik und mehrmaligen Überprüfens immer negative Resultate ergeben.

Es ist naheliegend zu glauben, daß die Reaktionen auf physikochemischen Veränderungen der Serumskolloide beruhen. Aber trotz der negativen Ergebnisse glaube ich doch an immunitäre Vorgänge, d. h. auf das Vorhandensein von Antikörpern, die bei dem Ausfall der Reaktion beteiligt sind. Das Versagen der Wiedergewinnung der an das Antigen gekoppelten Antikörper kann vielleicht auf die Festigkeit dieser Bindung zurückgeführt werden, die man nicht nur durch physikalische Maßnahmen wie hohe Temperaturen und hohe Umdrehungszahl der Zentrifuge wieder sprengen kann. Vielleicht vermag auch das Kaolin die Antikörper in ihrer Reaktionsbreite abzuschwächen.

Zusammenfassend möchte ich feststellen, daß bis heute trotz der vielen Methoden zur serologischen Diagnosestellung der Tuberkulose noch keine Reaktion ausgearbeitet wurde, auf deren Ergebnis hin alle Tuberkulosefälle erfaßt und mit absoluter Sicherheit als Tuberkulose angesprochen werden können.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. H. Selter für die liebenswürdige Übernahme des Referates meinen ergebensten Dank auszusprechen.

In gleicher Weise danke ich Herrn Dr. habil. P. Weiland für die gütige Überlassung des Themas.

LITERATURVERZEICHNIS.

Alessandro und Sofia: Über die Adsorption von Antikörper aus Seren Syphilitischer u. Tuberkulöser. Z. Immun.forsch. Bd. 83 S. 237.

Ernst: Zur Serologie d. Tuberkulose. Kl. Wschr. 1934 S. 839.

Haag und Dane: Die Serodiganostik der Tuberkulose mit Hilfe der Immunitätsreaktion von Meinicke. Kl. Wschr. 1933 S. 1574.

Haag und Niggemeyer: Die Ballungsreaktion bei Tuberkulose. Kl. Wschr. 1934 S. 260.

Hämel-Horster: Zur Serodiagnostik der Tuberkulose. Kl. Wschr. 1933 S. 462.

Meinicke: Die MKR. als Immunitätsreaktion. Kl. Wschr. 1931 S. 1757.

Nagell: Über eine neue Immunitätsreaktion für Tuberkulose. Kl. Wschr. 1933 S. 1048.

Olitzki: Das Verhalten des stabilotropen Agglutinins bei nichtspezifischer u. spezifischer Adsorption u. Elution. Z. Immun. forsch. Bd. 75 S. 43 (1932).

Schulte-Tigges: Prakt. Bedeutung serodiagnostischer Verfahren für Tuberkulose. Zentralbl. für Tuberkuloseforschung. Bd. 25 S. 417 (1926).

Witebsky u. Klingenstein: Zur serologischen Differentialdiagnose zwischen Tuberkulose u. Syphilis. Kl. Wschr. 1932 S. 97.

Weiland: Die Bedeutung der Serodiagnose der Tuberkulose für die Praxis. Med. Welt Nr. 28 1936.

LEBENSLAUF.

In Dillingen-Saar wurde ich am 16. Okt. 1911 als Sohn des Baumeisters L. Franz Scheil und seiner Ehefrau Anna, geb. Selkes, geboren. Nach 4jährigem Besuch der Volksschule trat ich in das Real-Reformgymnasium zu Dillingen-Saar ein, wo ich im März 1932 das Reifezeugnis erhielt. Hierauf widmete ich mich dem Studium der Medizin an den Universitäten Würzburg, Heidelberg, München und Bonn. In Heidelberg bestand ich im Oktober 1934 die ärztliche Vorprüfung und am 1. Februar 1939 in Bonn das medizinische Staatsexamen.